云 南 植 物 研 究 8(1): 109—113, 1986
Acta Botanica Yunnanica

香茶菜属二萜化合物的高效液相色谱分析

阮德婈 王德祖 孙汉董

(中国科学院昆明植物研究所)

摘要 本文报道了香茶菜属四种类型八个二萜化合物的 HPLC 定性分析，测定了它们的保留时间tR，容量因子K′，分离系数α，分离度Rs。实验结果表明，此法对香茶菜属植物的有效成份分析及其二萜化合物系统研究提供了前导性筛选手段。方法简便、微量、快速。

关键词 香茶菜属；二萜化合物；高效液相色谱；定性分析

冬凌草甲素等二萜化合物是从唇形科香茶菜属（*Rabdosia*）植物中分离到的一系列具抗癌活性的成份，临床已用于治疗食道癌、肝癌等有较好疗效[1]。为了对香茶菜属植物中有效成份的分析、二萜成份的系统研究提供前导性筛选手段及微量快速分析进行初步尝试，本研究应用高效液相色谱法（HPLC）选择了分属四个类型的八个二萜化合物（结构见图1），进行了不同流动相与保留时间关系和对其分离度影响的观察，探讨了色谱行为与固定相、流动相性质的关系，选择出最佳分离条件并作了验证，表明此法简便、微量、快速。

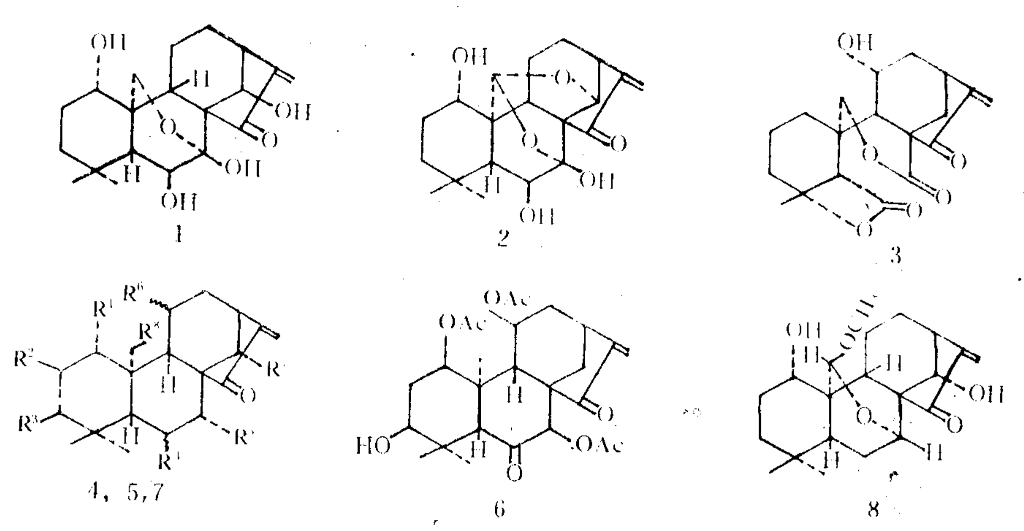


图1 八个香茶菜二萜化合物的结构

Fig. 1. The structures of eight compounds from *Rabdosia* diterpenoids

1.冬凌草甲素（oridonin） 2.冬凌草乙素（ponicidin）

本文于1985年8月15日收到。

3.卢氏冬凌草甲素（ludongnin A）

4.信阳冬凌草甲素

(xindongnin A)

$R_1=R_2=R_7=R_8=H$,

$R_4=O$

$R_3=R_5=OAc$

$R_6=\beta-OH, \alpha-H$

5.鲁山冬凌草甲素

(lushanrubescensin A)

$R_1=R_7=R_8=H$,

$R_2=R_3=OAc$

$R_4=R_6=\alpha-OAc, \beta-H$

$R_5=OH$

6.腺花香茶菜素

(adenathin)

7. kamebakaurin

$R_1=R_5=R_7=R_8=OH$

$R_2=R_3=R_4=R_6=H$

8. kamebacetal—A

实 验 部 份

1.仪器与试剂 Shimadzu LC—4A型高效液相色谱仪，C-R3A数据处理机，SPD-2AS可变波长紫外检测器，色谱柱250 mm×4.6 mm 不锈钢柱，固定相 zorbax ODS (Dupont)，SIL—1A 手动进样器，10 μl 微量注射器（上海医用激光仪器厂）。

试剂：甲醇（分析纯），水：二次重蒸水。

标准样品：由本所植化室唇形科香茶菜属二萜化合物研究组提供。

2.标准样品的配制 Ⅰ.冬凌草甲素 oridonin 3.90%；Ⅱ.冬凌草乙素 ponicidin 3.26%；Ⅲ.信阳冬凌草甲素 xindongnin A 3.98%；Ⅳ.卢氏冬凌草甲素 ludongnin A 3.98%；Ⅴ.鲁山冬凌草甲素 lushanrubescensin A 3.88%；Ⅵ.kamebacetal—A 3.35%；Ⅶ.腺花香茶菜素 adenathin 4.06%；Ⅷ. kamebakaurin 4.08%的浓度配成标样混合液，准确吸取10 μl，进样三次。

3.流动相配比的选择 室温20°C，流速0.58 ml/min，改变甲醇和水的比例，当MeOH : H_2O=65 : 35，流速为0.4 ml/min 时，各组份分离尚好，但分析时间较长，保留时间较长的组份其谱带偏宽，峰形较钝；当甲醇 : 水＝68 : 32，流速为0.58 ml/min时，22分钟内卢氏冬凌草甲素与冬凌草乙素，kamebakaurin 与冬凌草甲素略有重迭，其他组份均能完全分离。

4.测定结果

（1）八个二萜组份的色谱图（图2）和色谱数据表(1)。

（2）冬凌草总二萜中冬凌草甲素和乙素检测

在相同条件下，将河南济源县产的冬凌草总二萜吸取3 μl进行分析，检测结果见图3和表2。

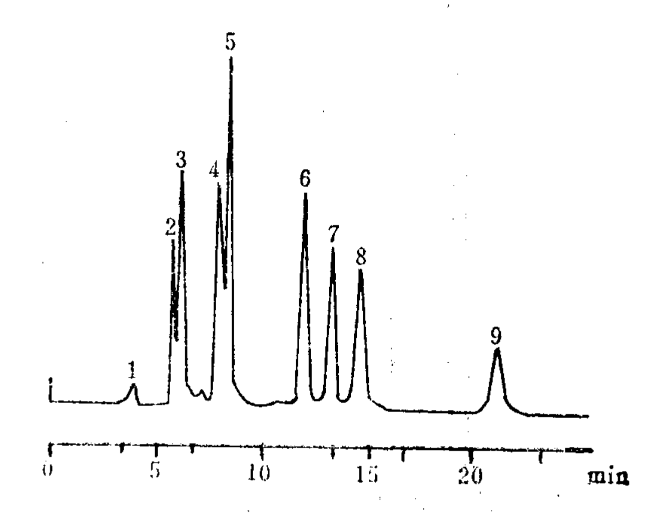


图2　标准样品色谱图

Fig. 2. Standard sample chromatogram

1. solvent; 2. ludongnin A; 3. ponicidin; 4. kamebakaurin; 5. oridonin; 6. xindongnin A; 7. adenathin; 8. lushanrubescensin A; 9. kamebacetal—A。

表1.　混合标准样品色谱数据*

Table 1.　Mixed standard sample chromatographic data

序顺 peak no.	样品名称 sample name	保留时间 retention time (min)	峰面积 area	浓度% conc. (%)	K′	α	Rs
2	卢氏冬凌草甲素 ludongnin A	5.926	2578	7.3572	0.46	1.46	2.81
3	冬凌草乙素 ponicidin	6.318	3782	10.7880	0.56	1.07	0.78
4	kamebakaurin	8.003	3960	11.2927	0.97	1.27	1.45
5	冬凌草甲素 oridonin	8.419	7089	20.2247	1.07	1.05	0.63
6	信阳冬凌草甲素 xindongnin A	12.080	5197	14.8285	1.98	1.43	3.14
7	腺花香茶菜素 adenathin	13.412	4372	12.4739	2.31	1.11	1.33
8	鲁山冬凌草甲素 lushanrubescensin A	14.795	4642	13.2438	2.65	1.10	1.19
9	kamebacetal—A	21.322	2648	7.5488	4.25	1.44	4.89

* 保留时间、峰面积、浓度均为进样三次平均值

讨　　论

1.在恒定条件下，选择合适的流动相及其配比，用保留时间定性，可作为判断香茶菜属二萜化合物是否存在的依据。此法微量、快速、简便。

2. HPLC分离分析的各个因素是相互制约的。本实验中，当流速一定时，增大水的比例，分离将得到改善，但谱带展宽，分析时间加长，柱压明显增加。在一定流动相配比条件下，加大流速，组份的保留时间相应缩短，但柱压也相应加大。

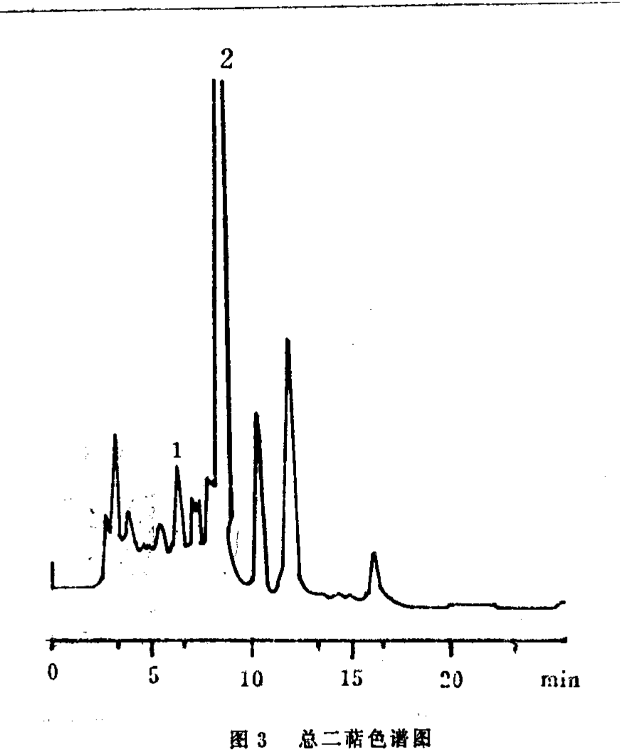


图3　总二萜色谱图

Fig. 3. Total diterpenoids chromatogram

1. ponicidin (tR=6.383); 2. oridonin(tR=8.552)

3.用 HPLC 法，在已知标样的基础上，可以对化学分离过程中间产物进行监测。从图3和表2分析可看出，总二萜中冬凌草乙素含量不高，而冬凌草甲素则分离提纯较易。值得注意的是，为延长柱子寿命，要求提供鉴定的未知样品不能太多太杂。

表2. 保留时间比较

Table 2. Retention time

样品名称 sample name	tR (retention time)				含量 % conten
	标准样品 standard sample	混合样 mixed sample	总二萜部分 total diterpenoids	标准偏差 standard deviation	
卢氏冬凌草甲素 ludongnin A	5.967	5.926		—0.041	
冬凌草乙素 ponicidin	6.337	6.318	6.383	0.001	3.34
kamebakaurin	8.092	8.003		—0.089	
冬凌草甲素 oridonin	8.415	8.419	8.552	0.004	49
信阳冬凌草甲素 xindongnin A	11.981	12.080		0.099	
腺花香茶菜素 adenathin	13.536	13.412		—0.124	
鲁山冬凌草甲素 lushanrubescensin A	14.896	14.795		—0.101	
kamebacetal-A	21.672	21.322		—0.350	

参 考 文 献

〔1〕 孙汉董、林中文、秦崇秋，晁金华、赵清治．1981：云南植物研究， 3（1）：95—100。

〔2〕 郑新荣、高增义、孙汉董、林中文，1984：云南植物研究．6（3）：316。

〔3〕 秦崇秋、刘晨江、李继成、安新宗、孙汉董、林中文，1984：云南植物研究 6（3）：333。

〔4〕 Girish, K. Trivedi and Isao Kubo, 1979: *Journal of Chromatography*, (179):219—221.

THE ANALYSIS OF RABDOSIA DITERPENOIDS BY HPLC

Ruan Dechun, Wang Dezu and Sun Handong

(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica)

Abstract tR, K', α, Rs of oridonin, ponicidin, ludongnin A, xindongnin A, lushanrubescensin A, adenathin, kamebakaurin and kamebacetal-A from *Rabdosia* diterpenoids were determined by HPLC method. The analysis conditions are as follows: Shimadzu Instrument LC-4A, column zorbax ODS 250 mm×4.6 mm; mobile phase, methanol-water (68 : 32); flow rate, 0.58 ml/min; pressure, 170 kg/cm^2; detector, SPD-2AS wave, 254 nm. The results show that the method is quick and simple.

Key words *Rabdosia*; Diterpenoids; HPLC